

**18 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**

**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

Offenlegungsschrift
DE 100 05 735 A 1

⑤ Int. Cl.⁷:
B 01 J 19/00
C 12 M 1/00
B 81 B 7/00

② Aktenzeichen: 100 05 735.7
 ② Anmeldetag: 9. 2. 2000
 ④ Offenlegungstag: 23. 8. 2001

(71) Anmelder:
EVOTEC BioSystems AG, 22525 Hamburg, DE

(74) Vertreter:
v. Bezold & Sozien, 80799 München

(72) Erfinder:
Shirley, Stephen Graham, Dr., London, GB; Müller, Torsten, Dr., 12439 Berlin, DE; Schnelle, Thomas, Dr., 10243 Berlin, DE; Fuhr, Günter, Prof. Dr., 13187 Berlin, DE; Hagedorn, Rolf, Dr., 13057 Berlin, DE

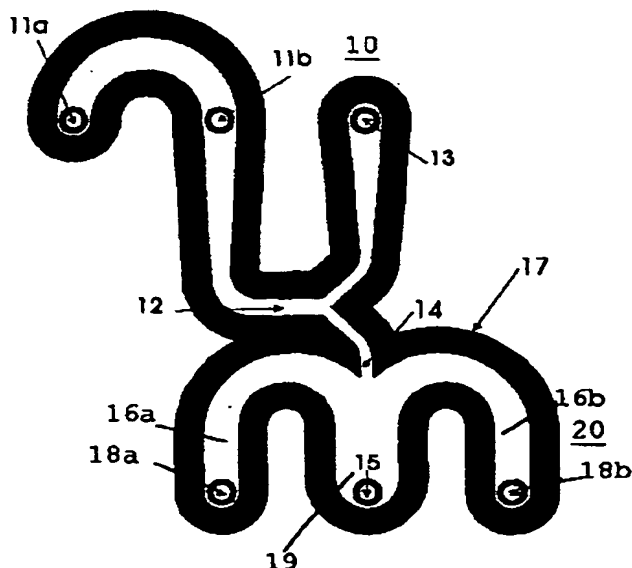
5B Entgegenhaltungen:
Göttlinger, C., Mechthold, B., Radbruch, A.: Operation of a Flow Cytometer. In: Radbruch, A. (Hrsg.): Flow Cytometry and Cell Sorting, Springer Laboratory 1992 S.7-23;
Blankenstein, G.: Microfabricated Flow System for Magnetic Cell and Particle Separation. In: Häfeli et. al. (Hrsg.) Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers Plenum Press, New York 1997 S.233-245;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Verfahren und Vorrichtung zur Abführung suspendierter Mikropartikel aus einem fluidischen Mikrosystem

57 Es wird ein Verfahren zur Abführung eines Fluidstroms mit suspendierten Mikropartikeln aus einem fluiddichten Mikrosystem (10) beschrieben, wobei der Fluidstrom am Ende eines Ausgangskanals (14) des Mikrosystems mit mindestens einem Auskoppelstrom zu einem Ausgangsstrom zusammengeführt und der Ausgangsstrom durch ein Ableitungselement (19) abgeleitet wird.



DE 100 05 735 A 1

DE 100 05 735 A 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Abführung suspendierter Mikropartikel aus einem fluidischen Mikrosystem, insbesondere zur Auskoppelung der Mikropartikel aus dem Mikrosystem. Die Erfindung betrifft auch ein Mikrosystem, das zur gesteuerten Abführung von Mikropartikeln ausgebildet ist, und eine Auskoppelvorrichtung zur Abführung von Mikropartikeln aus einem Mikrosystem.

Fluidische Mikrosysteme zur Manipulierung biologischer oder synthetischer Mikropartikel sind allgemein bekannt. Die Mikrosysteme umfassen in der Regel einen oder mehrere Eingangskanäle, eine Kanalanordnung zur Aufnahme und/oder Führung von Fluiden mit suspendierten Mikropartikeln (z. B. biologische Zellen) und einen oder mehrere Ausgangskanäle. An Ausgangskanäle als Enden des eigentlichen Mikrosystems schließen sich bei herkömmlichen Systemen Anschlußleitungen (sog. "tubing") an, in denen die Mikropartikel vom jeweiligen Ausgangskanal zur weiteren Bearbeitung oder Sammlung o. dgl. abgeführt werden. Diese Anschlußleitungen besitzen typischerweise eine Länge von rd. 2 bis 8 cm. Dies entspricht bei einem Innendurchmesser von z. B. 254 µm rund 1 bis 4 µl Schlauchvolumen. In einer Anschlußleitung besitzt eine Zelle im wesentlichen die gleiche Geschwindigkeit wie bei der Manipulierung in der Kanalanordnung und benötigt somit vom Ausgang des Mikrosystems bis zum Ende der Anschlußleitung je nach den Pumpraten Laufzeiten von rund 3 bis 60 min.

Derart hohe Laufzeiten sind für die reproduzierbare Weiterbearbeitung der suspendierten Mikropartikel ungünstig. Beispielsweise für eine gesicherte Einzelzellablage, wie es das Klonieren von Zellen erfordert, benötigt man erheblich kürzere Zeiten von rd. 10 bis 60 s. Außerdem verringern zusätzlich wirkende Sedimentationserscheinungen bei zu großen Laufzeiten deutlich die Wiederfindungsrate der Zellen.

Die schnelle und reproduzierbare Abführung von suspendierten Mikropartikeln aus Mikrosystemen ist ein Problem, das bisher nicht mit vertretbarem technischen Aufwand gelöst werden konnte.

In der Fluidtechnik ist das sogenannte Hüllstromprinzip zur hydrodynamischen Fokussierung bekannt. Die hydrodynamische Fokussierung ermöglicht die Aufreihung von Probenpartikeln und für bestimmte analytisch/präparative Aufgaben die Vereinzelung von Partikel und Zellen, siehe A. Radbruch in "Flow cytometry and cell sorting" Springer-Verlag, Berlin 1992. Zur Realisierung des Hüllstromprinzips wird ein Fluidstrom mit den Partikeln in einem coaxialen Düsenaufbau von einem äußeren Hüllstrom umgeben. Der Hüllstrom muß eine größere Geschwindigkeit als der Fluidstrom besitzen, damit die hydrodynamische Fokussierung erfolgen kann. Der Fluidstrom wird vom Hüllstrom mitgerissen. Die hydrodynamische Fokussierung ist in der Mikrosystemtechnik nicht anwendbar, da durch die notwendig hohe Geschwindigkeit eines Hüllstroms die Strömungsverhältnisse im Mikrosystem auch stromaufwärts relativ zum genannten Düsenaufbau beeinflußt werden würden. Eine derartige externe und nicht reproduzierbare Störung der Strömungsverhältnisse in der Kanalanordnung eines Mikrosystems ist jedoch in der Regel unerwünscht.

Es sind ferner mikrostrukturierte Strömungsschalter (sogenannter "Flow-switch") bekannt, die auf dem Hüllstromprinzip basieren, siehe G. Blankenstein in der Publikation "Microfabricated flow system for magnetic cell and particle separation" in "Sci. & Clin. Appl. Magn. Carriers", Hrsg. Häfeli et al., Plenum Press New York, 1997. Beim Strömungsschalter 10' wird, wie in Fig. 6 illustriert, ein Probenstrom P in der Kanalanordnung eines Mikrosystems, z. B. in einem Separationsabschnitt 12', durch einen separaten Hüll-

strom H begleitet. Am Separationsabschnitt 12' ist eine magnetische Trenneinrichtung 11' vorgesehen. An den Separationsabschnitt 12' schließen sich mehrere Ausgangskanäle 14' an, in die je nach der Funktion der Trenneinrichtung 11' bestimmte Anteile der Hüll- und Probenströme geleitet werden. Die Anwendung des Strömungsschalters ist auf Fluidzusammenflüsse oder -aufteilungen im Inneren des Mikrosystems beschränkt. Die Dimension der Ausgangskanäle legt die Parameter der zusetzbaren Proben- und Hüllströme fest. Das obengenannte Problem der Abführung suspendierter Mikropartikel aus Mikrosystemen kann mit einem Strömungsschalter nicht gelöst werden.

Die Anwendung des Hüllstromprinzips zur Zentrierung oder Umlenkung eines Probenstroms ist bisher auf die hydrodynamische Fokussierung und die genannten Strömungsschalter beschränkt.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein verbessertes Verfahren bzw. ein geeignetes System zur Abführung suspendierter Mikropartikel aus einem fluidischen Mikrosystem bereitzustellen, das insbesondere einen einfachen Aufbau besitzt und eine schnelle Partikelabführung ohne nachteilige Beeinflussung der Funktion des Mikrosystems, insbesondere der dort herrschenden Strömungsbedingungen, gewährleistet, robust ist und einfach an unterschiedliche Anwendungen angepaßt werden kann. Mit der Erfindung wird insbesondere eine verlustarme oder verlustfreie Entnahme von Mikropartikeln mit einem Flüssigkeitsstrom aus Mikrosystemen oder Mikrokapillarsystemen angestrebt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es insbesondere auch, bei der Abführung suspendierter Mikropartikel die Eigenschaften der entnommenen oder abgeführten Suspension zu beeinflussen. Die Suspension soll bspw. in ihrer stofflichen Zusammensetzung und/oder in Bezug auf die Partikeldichte (Verdünnung) verändert werden.

Diese Aufgaben werden durch ein Verfahren und Vorrichtungen mit den Merkmalen gemäß Anspruch 1 bzw. 9 oder 20 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Die Grundidee der Erfindung besteht in der Schaffung eines Verfahrens zur Abführung eines Fluidstroms mit suspendierten Mikropartikeln aus einem fluidischen Mikrosystem, bei dem der Fluidstrom am Ende eines Ausgangskanals des Mikrosystems mit mindestens einem Auskoppelstrom zu einem Ausgangsstrom zusammengeführt und dieser als ein Gesamtstrom abgeleitet wird. Im Unterschied zu den herkömmlichen Techniken der hydrodynamischen Fokussierung und des Strömungsschalters erfolgt die Bildung des Ausgangsstroms nach der Manipulierung der suspendierten Mikropartikel in einem Mikrosystem, ohne in diesem die Strömungsverhältnisse zu beeinflussen. Die Ableitung des Ausgangsstroms erfolgt durch ein passendes Ableitungselement (z. B. Schlauch, Rohr oder dgl.) mit charakteristischen Dimensionen, die an die Parameter eines Bauteils zur Aufnahme des Ausgangsstroms (z. B. eine Meßeinrichtung) angepaßt sind.

Zur Erzeugung des Auskoppelstroms wird gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ein Strömungsauskoppler mit mindestens einem Auskoppelkanal verwendet, der am Ende des Ausgangskanals des Mikrosystems mündet. Es werden vorzugsweise mehrere Auskoppelkanäle verwendet, die von verschiedenen Richtungen an den Fluidstrom herangeführt werden. Die wichtigste Aufgabe des mindestens einen Auskoppelstroms besteht in der fluidischen Addition einer vorbestimmten Flüssigkeitsmenge zum Fluidstrom am Ende des Mikrosystems. Durch Einstellung der Durchflußrate des Auskoppelstroms (Volumendurchsatz pro Zeiteinheit) ist das Probenvolumen am

Auslaß des Mikrosystems beliebig einstellbar. Es wird vorzugsweise mindestens ein Auskoppelstrom gebildet, dessen Strömungsgeschwindigkeit geringer als die Strömungsgeschwindigkeit des Fluidstroms ist und dessen Pumprate größer als die Pumprate des Fluidstroms ist. Erfindungsgemäß ist am Ausgang des Mikrosystems laufend eine Verdünnung des Fluidstroms vorgesehen.

Gemäß einer weiteren Funktion dient der mindestens eine Auskoppelstrom auch einer Behandlung der suspendierten Mikropartikel. Hierzu wird der Auskoppelstrom durch mindestens eine Behandlungslösung, z. B. eine Waschlösung, ein Kultivierungsmedium oder eine Konservierungslösung, gebildet. Es sind vorzugsweise mehrere Auskoppelkanäle zur Führung verschiedener Behandlungslösungen vorgesehen, die von verschiedenen Richtungen gleichzeitig oder stromabwärts aufeinanderfolgend mit dem Fluidstrom zusammengeführt werden.

Bei einer alternativen Ausführungsform der Erfindung wird die Pumprate des Auskoppelstroms so eingestellt, daß dessen Strömungsgeschwindigkeit einen definierten Wert besitzt und größer als die Strömungsgeschwindigkeit des Fluidstroms ist. Bei dieser Gestaltung wird der Strömungsauskoppler selbst als Pumpeneinrichtung verwendet, der die Pumpeneinrichtungen in der Kanalanordnung des Mikrosystems entlastet oder ersetzt.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein fluidisches Mikrosystem mit einer Kanalanordnung zur Aufnahme und/oder zum Durchfluß von Fluiden mit suspendierten Mikropartikeln und mindestens einem Ausgangskanal zur Führung eines Fluidstroms, bei dem am Ende des Ausgangskanals mindestens ein Strömungsauskoppler mit mindestens einem Auskoppelkanal zur Führung eines Auskoppelstroms vorgesehen ist, der am Ende des Ausgangskanals mündet.

Die Mündung des mindestens einen Auskoppelkanals am Ende des Mikrosystems ist vorzugsweise so gebildet, daß die zusammenfließenden Fluid- und Auskoppelströme konvergierend zusammenfließen. Am stromabwärts gelegenen Ende des Strömungsauskopplers ist ein Ableitungselement z. B. in Form eines Schlauches oder Rohres vorgesehen, an dessen Ende sich gegebenenfalls mindestens ein weiterer Strömungsauskoppler mit weiteren Auskoppelkanälen zur weiteren Verdünnung des Ausgangsstroms anschließt.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Strömungsauskoppler an sich, der an einen Ausgang eines fluidischen Mikrosystems zur Strömungsverdünnung des austretenden Fluidstroms ansetzbar ist. Unter Strömungsverdünnung wird die während des Strömens laufende Verringerung der Partikeldichte im Fluidstrom durch Zusammenführen mit einem oder mehreren Auskoppelströmen verstanden.

Die Erfindung besitzt die folgenden Vorteile. Durch den Einsatz eines Auskoppelstroms am Ausgang eines Mikrosystems können die suspendierten Mikropartikel, z. B. biologische Zellen oder Zellbestandteile, synthetische Partikel oder Kompositpartikel mit biologischen und synthetischen Anteilen, verlustfrei oder zumindest verlustarm aus dem Mikrosystem entnommen oder abgeführt werden. Die Flußrate im Ausgangsstrom kann ohne störende Beeinflussung der Strömungsgeschwindigkeit im Mikrosystem stromaufwärts von dessen Ausgang erhöht werden. Durch die Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit der Partikelsuspension nach Abführung aus dem Mikrosystem wird die Gefahr von Wechselwirkungen zwischen den Partikeln und Kanalwänden verringert. Es können bspw. Zelladhäsionen vermieden werden. Die Erfindung ist mit Vorteil insbesondere bei niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten im Mikrosystem im Bereich von z. B. 1 $\mu\text{m/s}$ bis 10 mm/s anwendbar.

Es gibt sich aber auch eine Verringerung der Suspensi-

onsdichte. Diese Verringerung der Suspensionsdichte ist von der Partikelauflösung bei der hydrodynamischen Fokussierung zu unterscheiden. Nach der Manipulierung einzelner Mikropartikel im Mikrosystem sind diese am Ausgang bereits aufgereiht oder anderweitig voneinander getrennt. Die Verringerung der Suspensionsdichte bedeutet hingegen, daß Fluidmengen jeweils mit einem oder wenigen Partikeln, z. B. in Form von Tropfen, bereitgestellt werden können, deren Volumen an das Aufnahmevermögen einer sich anschließenden Meßeinrichtung angepaßt ist. Es kann eine vorbestimmte Tropfengröße am Ende des dem Strömungsauskoppler nachgeordneten Ableitungselements gebildet sein, was für die Einzelzellablage vorteilhaft ist.

Eine Verringerung der Suspensionsdichte ermöglicht auch großzügigere Toleranzen bei der Fluidankopplung. Wenn bei der Partikelmanipulierung im Mikrosystem bspw. im Ergebnis von Sortiervorgängen im Ausgangsstrom Totvolumina entstehen, so werden diese durch die Suspensionsverdünnung ausgeglichen.

Ein weiterer wichtiger Vorteil besteht beim Zusatz von Behandlungslösungen zum Fluidstrom. Die Behandlungslösung kann mit einem gegenüber dem Suspensionsvolumen im Mikrosystem erheblich vergrößerten Volumen verwendet werden. Vorteilhafterweise können verschiedene Auskoppelströme aus verschiedenen Behandlungslösungen bestehen und ggf. mit verschiedenen Flußraten zugeführt werden. Die Behandlung der abgeführten Mikropartikel ist quantitativ einstellbar.

Der erfindungsgemäße Strömungsauskoppler kann einfach an beliebige Mikrosysteme angepaßt werden, da in Bezug auf die Geometrie der Zusammenführung der Fluid- und Auskoppelströme keine Einschränkungen bestehen. Es ist insbesondere nicht zwingend erforderlich, daß der Fluidstrom vom Auskoppelstrom vollständig umhüllt wird. Es ist auch keine Fokussierung der Mikropartikel im Ausgangsstrom erforderlich.

Zur Erzielung der erfindungsgemäßen Strömungsverdünnung kann die Strömungsgeschwindigkeit des Auskoppelstroms bei geeignetem Querschnitt des Auskoppelkanals so gering eingestellt werden, daß im wesentlichen keine Rückwirkung auf das Mikrosystem erfolgt.

Die Erfindung ist auch bei Mikrosystemen anwendbar, in denen kein oder nur ein vernachlässigbar kleiner Nettostrom im Mikrosystem auftritt und die Mikropartikel mit elektrischen oder magnetischen Kräften durch die Kanalanordnung bewegt werden.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung werden im folgenden unter Bezug auf die Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 eine Ausführungsform eines mit einem Strömungsauskoppler ausgestatteten erfindungsgemäßen Mikrosystems,

Fig. 2 eine Draufsicht auf einen erfindungsgemäßen Strömungsauskoppler,

Fig. 3 eine Draufsicht auf eine weitere Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Strömungsauskopplers,

Fig. 4 eine Draufsicht einer weiteren Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Strömungsauskopplers,

Fig. 5 eine Draufsicht auf zwei in Strömungsrichtung nacheinander angeordnete Strömungsauskoppler, und

Fig. 6 eine Illustration eines herkömmlichen Strömungsschalters in fluidischen Mikrosystemen,

Fig. 1 illustriert in schematischer Draufsicht Komponenten eines fluidischen Mikrosystems 10 mit einem Strömungsauskoppler 20, die zur Realisierung der erfindungsgemäßen Abführung suspendierter Mikropartikel aus dem Mikrosystem ausgelegt sind. Unter einem fluidischen Mikrosystem wird hier allgemein eine Einrichtung mit mindestens

einem Eingang, einer Kanalanordnung zur Aufnahme und/oder Führung eines Fluids, insbesondere einer Partikelsuspension, und mindestens einem Ausgang verstanden. Zwischen den Ein- und Ausgängen erstrecken sich über die Kanalanordnung Flüssigkeitsleitungen mit anwendungsabhängigen Geometrien, Dimensionen bzw. Querschnittsformen. Die Flüssigkeitsleitungen sind beispielsweise als strukturierte Kanäle in einem Festkörperträger (Chip), z. B. aus einem Halbleitermaterial oder aus Kunststoff, ausgebildet. Die Kanalböden werden durch das Chipmaterial und die Kanaldecken durch eine geeignete Chipabdeckung, z. B. aus Glas oder Kunststoff, bereitgestellt. Es ist jedoch auch möglich, daß die seitlichen Kanalwände durch Abstandsstücke (Spacer) gebildet werden, die entsprechend geformt von einem Festkörperträger aufragen. Im fluidischen Mikrosystem können ferner Mikroelektroden zur Bildung hochfrequenter elektrischer Felder für die dielektrophoretische Manipulation der Partikel, Manipulationseinrichtungen, wie z. B. Elektroporationselektroden, Pumpeinrichtungen und Meßeinrichtungen vorgesehen sein. Diese Komponenten sind an sich aus der Mikrosystemtechnik bekannt und werden daher hier nicht im einzelnen erläutert.

Bei der in Fig. 1 gezeigten Ausführungsform der Erfindung sind das fluidische Mikrosystem 10 und der Strömungsauskoppler 20 gemeinsam auf einem Substrat durch einen die Kanalwände bildenden Spacer 17 vorgesehen. Es ist alternativ auch möglich, das Mikrosystem 10 und den Strömungsauskoppler 20 modular getrennt voneinander auszuführen (s. unten).

Das Mikrosystem 10 besitzt zwei Eingänge 11a und 11b, die mit einem Hauptkanal 12 verbunden sind, der allgemein eine systemfunktionspezifische Kanalanordnung repräsentiert. Der Hauptkanal 12 teilt sich am Ende in einen Ablauf 13 (sogenannter Wastekanal) zur Abführung unerwünschter oder abgetrennter Fluid- und/oder Mikropartikelanteile und einen Ausgangskanal 14. Im Ausgangskanal 14 wird die Suspension mit den gewünschten Mikropartikeln geführt, die vom Mikrosystem zu einer sich anschließenden Meß- oder Manipulatoreinheit überführt werden sollen. Hierzu ist am Ende des Ausgangskanals 14 der Strömungsauskoppler 20 vorgesehen.

Der Strömungsauskoppler 20 besitzt zwei Auskoppelkanäle 16a, 16b, die sich jeweils von einem Auskoppelstromeingang 18a, 18b zum Ende des Ausgangskanals 14 erstrecken. Die Auskoppelkanäle 16a, 16b münden derart am Ende des Ausgangskanals 14, daß die Strömungsrichtungen in den Ausgangs- bzw. Auskoppelkanälen jeweils einen Winkel bilden, der kleiner als 90° ist. Nach der Mündung gehen die Auskoppelkanäle 16a, 16b in ein Ableitungselement 19 über, das an einem Ausgang 15 endet. Die Anordnung der Auskoppelkanäle 16a, 16b, die auch als "Doppelhorn"-Anordnung bezeichnet wird, ist durch eine in Bezug auf die verlängerte Strömungsrichtung am Ende des Ausgangskanals 14 spiegelsymmetrische Anordnung der gekrümmten Auskoppelkanäle 16a, 16b gekennzeichnet.

Die Kanalstruktur 10, 20 ist des weiteren mit (nicht dargestellten) Pumpeinrichtungen ausgestattet, die für einen Fluidtransport im Mikrosystem 10, eine Abfuhr unerwünschten Fluids durch den Ablauf 13, den Transport von Auskoppelströmen durch die Auskoppelkanäle 16a, 16b und die Abfuhr des aus Ausgangs- und Auskoppelströmen gebildeten Ausgangsstrom durch das Ableitungselement 19 zum Ausgang 15 sorgen. Diese Pumpeinrichtungen sind an sich bekannt und umfassen beispielsweise Peristaltikpumpen, Spritzenpumpen oder auch elektroosmotisch wirkende Fluid- oder Partikelantriebe.

Die Kanäle in erfindungsgemäßen Mikrosystemen besitzen typischerweise Kanalhöhen von rd. 20 bis 50 µm und

Kanalbreiten von rd. 200 bis 800 µm. Die eingestellten Strömungsgeschwindigkeiten in den Kanälen liegen im Bereich von 50 bis 1000 µm/s entsprechend einer Pumpenrate im Bereich von 1 bis 20 µl/h. Die Auskoppelkanäle 16a, 16b besitzen größere Querschnittsdimensionen als der Ausgangskanal 14. Die Kanalbreite liegt typischerweise im Bereich von 5 µm bis 5000 µm.

Das Mikrosystem 10 gemäß Fig. 1 wird wie folgt betrieben. Das Mikrosystem 10 dient beispielsweise der Trennung von suspendierten Mikropartikeln in Abhängigkeit von ihrer Fähigkeit, auf eine bestimmte Stoffeinwirkung (z. B. einen Antikörper) zu reagieren. Durch die Eingänge 11a, 11b werden ein Fluid mit den zu trennenden Mikropartikeln bzw. eine Lösung mit einer Wirksubstanz eingeströmt. Im Hauptkanal 12 kommt es zur Wechselwirkung zwischen den Mikropartikeln und der Wirksubstanz und zum eigentlichen Trennvorgang. Der Trennvorgang umfaßt beispielsweise die folgenden Schritte. Zuerst werden die Mikropartikel mit an sich bekannten Feldbarrieren räumlich getrennt und angeordnet. Anschließend erfolgt eine Vermessung einzelner Mikropartikel, wie z. B. eine Messung der dielektrischen Rotation. Je nach dem Meßergebnis wird eine Feldbarriere am Ende des Hauptkanals 12 betätigt, um die Mikropartikel in den Ablauf 13 oder in den Ausgangskanal 14 zu lenken. Beim Abführen der Mikropartikel aus dem Ausgangskanal 14 besteht nun bei den herkömmlichen Systemen das Problem einer unverändert geringen Transportgeschwindigkeit, das hier durch den Betrieb des Strömungsauskopplers 20 gelöst wird.

Im Strömungsauskoppler 20 strömen in den Auskoppelkanälen 16a, 16b von den Eingängen 18a, 18b zum Ende des Ausgangskanals 14 Auskoppelströmungen mit einer gegenüber dem Fluidstrom im Ausgangskanal 14 erhöhten Pumpenrate. Der Fluidstrom wird mit den Auskoppelströmen zu einem Ausgangsstrom zusammengeführt. Der Ausgangsstrom befördert die Mikropartikel vom Ausgangskanal 14 zum Ausgang 15 des Ableitungselements 19. Dabei wird durch die zugeführten Auskoppelströme ein Anhaften von Mikropartikeln am Rand des Ableitungselements 19 und deren Sedimentation verhindert. Am Ende des Ausgangskanals 14 eintreffende Mikropartikel werden sicher und mit einer vorbestimmten Geschwindigkeit zum Ausgang 15 befördert. Dies erleichtert insbesondere die Ablage von Mikropartikeln in den Reservoiren einer Zellkulturplatte.

Am Ausgang 15 des Strömungsauskopplers 20 kann sich ein weiteres "Tubing" oder Schlauchelement anschließen, in dem der gesamte Ausgangsstrom aus Fluid- und Auskoppelströmen weitergeleitet wird, ohne daß die genannten Anhaftungs- oder Sedimentationsprobleme auftreten.

Fig. 2 zeigt eine weitere Ausführungsform des Strömungsauskopplers 20 in der "Doppelhorn"-Anordnung. Im Ausgangskanal 21 des (nicht dargestellten) Mikrosystems werden in Pfeilrichtung Mikropartikel 21a transportiert. Von den Auskoppelstromeingängen 22a, 22b fließen entsprechend der gezeigten Pfeilrichtung Auskoppelströme 24 durch die am Ende des Ausgangskanals 21 mündenden Auskoppelkanäle 25a, 25b. Die Auskoppelströme 24 werden mit einer Peristaltikpumpe oder einer Spritzenpumpe erzeugt. Sie nehmen die Partikel 21a am Ende des Ausgangskanals mit, so daß diese durch das Ableitungselement 26 zum Ausgang 27 geführt werden. Der Ausgang 27 des Strömungsauskopplers 20 ist vorzugsweise am Schnittpunkt der konvergierenden Auskoppelströme 24 angeordnet. Bei der symmetrischen Kanalausrichtung entspricht dies einer Position auf einer Bezugslinie, die der Ausrichtung des Ausgangskanals 21 entspricht.

Eine abgewandelte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Strömungsauskopplers ist in Fig. 3 illustriert. Der

Strömungsauskoppler 30 am Ende des Ausgangskanals 31 besitzt nur einen Auskoppelkanal 34, der von einem Eingang 33 zum Ausgang 32 des Ableitungselements 35 führt. Wie bei den oben erläuterten Ausführungsformen wird auch bei diesem asymmetrischen Aufbau der Fluidstrom vom Ausgangskanal 31 mit dem Auskoppelstrom im Auskoppelkanal 34 zusammengeführt. Die im Fluidstrom enthaltenen Mikropartikel werden im gemeinsamen Ausgangsstrom mitgerissen und zum Ausgang 32 geleitet. Es wurde überraschenderweise festgestellt, daß auch bei dieser asymmetrischen Gestaltung ein Anhaften von Mikropartikeln an der Wand des Ableitungselements 35 ausgeschlossen wird.

Fig. 4 illustriert ein weiteres Beispiel einer "Doppelhorn"-Anordnung, die jedoch im Unterschied zur Ausführungsform gemäß Fig. 2 asymmetrisch gebildet ist. Der Strömungsauskoppler 40 am Ende des Ausgangskanals 41 besitzt einen ersten Auskoppelkanal 42a mit einem engen Kanalquerschnitt und einen zweiten Auskoppelkanal 42b mit einem weiten Kanalquerschnitt, die entsprechend von den Eingängen 43a, 43b über das Ableitungselement 45 zum Ausgang 46 führen. Das Bezugszeichen 44 weist auf die Geometrie der Zusammenführung mit dem Fluidstrom vom Ausgangskanal 41 asymmetrisch gebildet sind.

Durch den asymmetrischen Aufbau gemäß Fig. 4 kann der Zustrom bestimmter Behandlungssubstanzen mit den Auskoppelströmen 44, wie er an sich auch bei den oben erläuterten Ausführungsformen möglich ist, weiter in Bezug auf die Substanzmengen oder Einstromrichtungen der Auskoppelströmung modifiziert werden. Es ist z. B. vorgesehen, die Menge der einem Auskoppelstrom zugesetzten Behandlungssubstanz in Abhängigkeit vom Meß- oder Betriebszustand des Mikrosystems 10 (s. Fig. 1) zu variieren.

Fig. 5 illustriert in schematischer Draufsicht eine weitere Ausführungsform der Erfindung, bei der zwei in Serie geschaltete Strömungsauskoppler 50a, 50b vorgesehen sind. Der erste Strömungsauskoppler 50a ist am Ende des Ausgangskanals 51 angeordnet und mit den Eingängen 53a, 53d und den gekrümmten Auskoppelkanälen zur Führung der Auskoppelströme 54a, 54d vorgesehen. Am Ausgang des Ableitungselements 55a ist der zweite Strömungsauskoppler 50b angebracht. Der zweite Strömungsauskoppler 50b umfaßt ebenfalls gekrümmte Auskoppelkanäle von den Eingängen 53b, 53c zur Führung der Auskoppelströme 54b, 54c. Der aus dem Fluid- und Auskoppelströmen gebildete Ausgangsstrom wird über den Ausgang 52 abgeleitet.

Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 5 können über die einzelnen Auskoppelkanäle verschiedene Behandlungslösungen, Kultivierungsmedien oder Konservierungslösungen zugeführt werden. Der Aufbau gemäß Fig. 5 kann auch asymmetrisch oder durch modifiziertes Einmünden der Auskoppelkanäle gebildet sein. Die Auskoppelkanäle können beispielsweise entsprechend bestimmten Positionen an den Ableitungselementen 55a, 55b vorgesehen sein, um die Behandlungslösungen gemäß einem definierten Protokoll zuzuführen.

Eine Kanalstruktur zur Realisierung der Erfindung kann gegenüber den oben erläuterten Ausführungsformen vielfältig modifiziert werden. Es kann beispielsweise ein Strömungsauskoppler als eigenständiges Bauteil vorgesehen sein, das am Ausgangskanal (z. B. 14, s. Fig. 1) eines Mikrosystems angebracht ist. Ein Strömungsauskoppler besitzt Ausmaße von rd. 1 bis 20 mm und kann somit ohne weiteres mit geeigneten Hilfsmitteln, z. B. Pinzette, manuell eingerichtet werden. Zur Verbindung zwischen dem Strömungsauskoppler-Bauteil und einem Mikrosystem-Chip sind beispielsweise abgedichtete Steckkoppler aus Kunststoff oder dgl. vorgesehen.

Abweichend von der dargestellten Form gekrümmter Auskoppelkanäle können auch andere gerade oder kurvenförmige Kanalgestalten vorgesehen sein. Die Auskoppelströme können auch aus einer vom fluidischen Mikrosystem abweichenden Ebene aus am Ende des jeweiligen Ausgangskanals münden. Bei Mikrosystemen mit mehreren Ausgangskanälen oder auch am Ende des Ablaufs eines Mikrosystems können erfindungsgemäße Strömungsauskoppler angebracht sein. Weitere Modifizierungsmöglichkeiten ergeben sich anwendungsabhängig in Bezug auf die Größe und Strömungsparameter der Strömungsauskoppler.

Erfindungsgemäß kann bei den oben beschriebenen Ausführungsformen vorgesehen sein, dass im Ableitungselement eines Strömungsauskopplers (z. B. Ableitungselement 19 in Fig. 1) zusätzlich Einrichtungen zur Partikel- und/oder Fluidmanipulierung angeordnet sind. Diese Einrichtungen umfassen bspw. Zusatzelektroden zur Ausbildung von elektrischen Feldern in der Suspensionsströmung im Ableitungselement. Mit den elektrischen Feldern könnten in an sich bekannter Weise Elektroosmoseströmungen induziert oder die elektrophoretische Teilchentrennungen vorgenommen werden. Bei derartigen Ausführungsformen können am Ende eines Ableitungselementes anstelle eines Ausgangs (z. B. Ausgang 15 in Fig. 1) mehrere Ausgänge als Auslässe von getrennten Partikeln und/oder Strömungen vorgesehen sein.

Die in der vorstehenden Beschreibung, der Zeichnung und den Ansprüchen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausgestaltungen von Bedeutung sein.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Abführung eines Fluidstroms mit suspendierten Mikropartikeln (21a) aus einem fluidischen Mikrosystem (10), dadurch gekennzeichnet, daß der Fluidstrom am Ende eines Ausgangskanals (14, 21, 31, 41, 51) des Mikrosystems mit mindestens einem Auskoppelstrom zu einem Ausgangsstrom zusammengeführt und der Ausgangsstrom durch ein Ableitungselement (19, 26, 35, 45, 55a, 55b) abgeleitet wird.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem der Auskoppelstrom mit mindestens einem Strömungsauskoppler (20, 30, 40, 50a, 50b) mit mindestens einem Auskoppelkanal (16a, 16b, 25a, 25b, 34, 42a, 42b) erzeugt wird, der am Ende des Ausgangskanals (14, 21, 31, 41, 51) mündet.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem mit dem Strömungsauskoppler (20, 30, 40, 50a, 50b) eine Strömungsgeschwindigkeit des Auskoppelstroms eingestellt wird, die geringer als die Strömungsgeschwindigkeit des Fluids im Ausgangskanal ist.
4. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem mit dem Strömungsauskoppler (20, 30, 40, 50a, 50b) eine Strömungsgeschwindigkeit des Auskoppelstroms eingestellt wird, die höher als die Strömungsgeschwindigkeit des Fluids im Ausgangskanal ist.
5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem mit dem Strömungsauskoppler (20, 30, 40, 50a, 50b) ein Ausgangsstrom gebildet wird, in dem die Dichte oder Konzentration der Mikropartikel geringer ist als im anfänglichen Fluidstrom.
6. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem der Ausgangsstrom aus dem Fluidstrom und ersten Auskoppelströmen (54a, d) mit weiteren Auskoppelströmen (54b, c) zusammengeführt und durch ein Ableitungselement abgeleitet wird.

7. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem zur Bildung des Auskoppelstromes mindestens eine Behandlungslösung zur Behandlung der Mikropartikel verwendet wird.
8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Mikropartikel biologische Zellen oder Zellbestandteile, synthetische Partikel, Makromoleküle und/oder Makromolekülaggregate umfassen.
9. Fluidisches Mikrosystem (10), das eine Kanalanordnung (12) zur Aufnahme und/oder zum Durchfluß von Fluiden mit suspendierten Mikropartikeln und mindestens einen Ausgangskanal (14, 21, 31, 41, 51) zur Führung eines Fluidstromes aufweist, gekennzeichnet durch mindestens einen Strömungsauskoppler mit mindestens einem Auskoppelkanal (16a, 16b, 25a, 25b, 34, 42a, 42b) zur Führung mindestens eines Auskoppelstromes (24, 44, 54a-d), wobei der Auskoppelkanal am Ende des Ausgangskanals mündet.
10. Mikrosystem gemäß Anspruch 9, bei dem der Auskoppelkanal und der Ausgangskanal in ein Ableitungselement (19, 26, 35, 45, 55a, 55b) zur Führung eines Ausgangsstromes aus Fluid- und Auskoppelströmen bis zu einem Ausgang (15, 27, 32, 46, 52) zusammenlaufen.
11. Mikrosystem gemäß Anspruch 10, bei dem mehrere Strömungsauskoppler (50a, 50b) vorgesehen sind, die aufeinanderfolgend stromabwärts am Ausgangskanal (51) bzw. am Ableitungselement (55a) vorgesehen sind.
12. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 11, bei dem jeder Auskoppelkanal so ausgerichtet ist, daß der Auskoppelstrom und der Fluidstrom zueinander unter einem Winkel verlaufen, der kleiner als 90° ist.
13. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 12, bei dem jeder Auskoppelkanal eine gekrümmte Form besitzt, an deren Ende der Auskoppelkanal konvergent in den Ausgangskanal mündet.
14. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 13, bei dem ein Auskoppelkanal (34) vorgesehen ist, der an einer Seite des Endes des jeweiligen Ausgangskanals (31) mündet.
15. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 13, bei dem zwei Auskoppelkanäle (16a, 16b, 25a, 25b, 42a, 42b) vorgesehen sind, die von zwei zueinander gegenüberliegenden Seiten her am Ende des Ausgangskanals (14, 21, 41) münden.
16. Mikrosystem gemäß Anspruch 15, bei dem die zwei Auskoppelkanäle (42a, 42b) relativ zum Ausgangskanal (41) asymmetrisch geformte Kanalbögen bilden.
17. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 16, bei dem der Strömungsauskoppler eine Pumpeneinrichtung mit steuerbarer Pumprate aufweist.
18. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 17, bei dem der Strömungsauskoppler mindestens ein Reservoir mit Behandlungslösungen aufweist.
19. Mikrosystem gemäß Anspruch 18, bei dem die Behandlungslösungen Waschlösungen, Konservierungslösungen, Kultivierungsmedien und/oder Kryokonservierungslösungen umfassen.
20. Mikrosystem gemäß einem der Ansprüche 9 bis 19, bei dem die Kanalanordnung Teil eines Festkörperchips ist, an dem der Strömungsauskoppler lösbar befestigt ist.
21. Strömungsauskoppler, bestehend aus einem an einem fluidischen Mikrosystem flüssigkeitsdicht ansetzbaren Bauteil mit mindestens einem Auskoppelkanal

(16a, 16b, 25a, 25b, 34, 42a, 42b), der einerseits ein freies Ende und andererseits einen Anschluß für eine Pumpeneinrichtung und ein Reservoir mit Behandlungslösungen besitzt.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

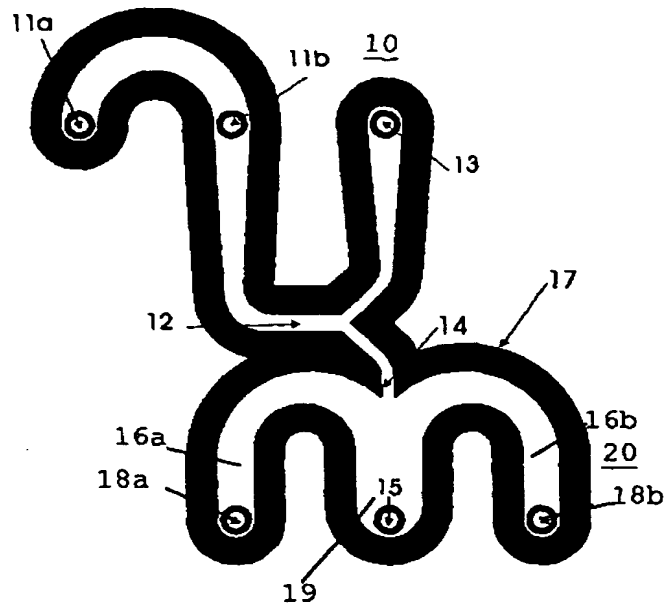


Fig. 1

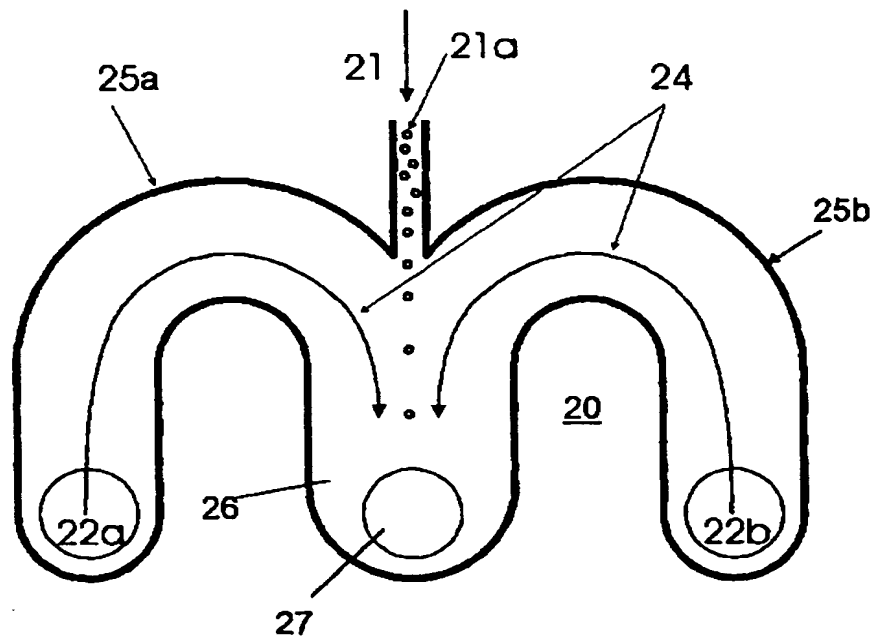


Fig. 2

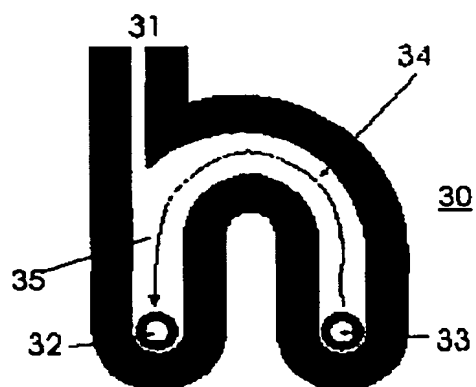


Fig. 3

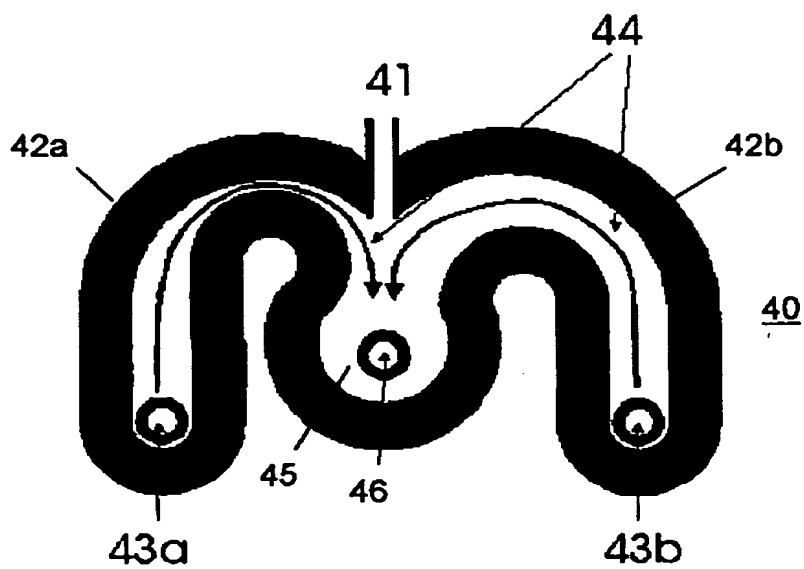


Fig. 4

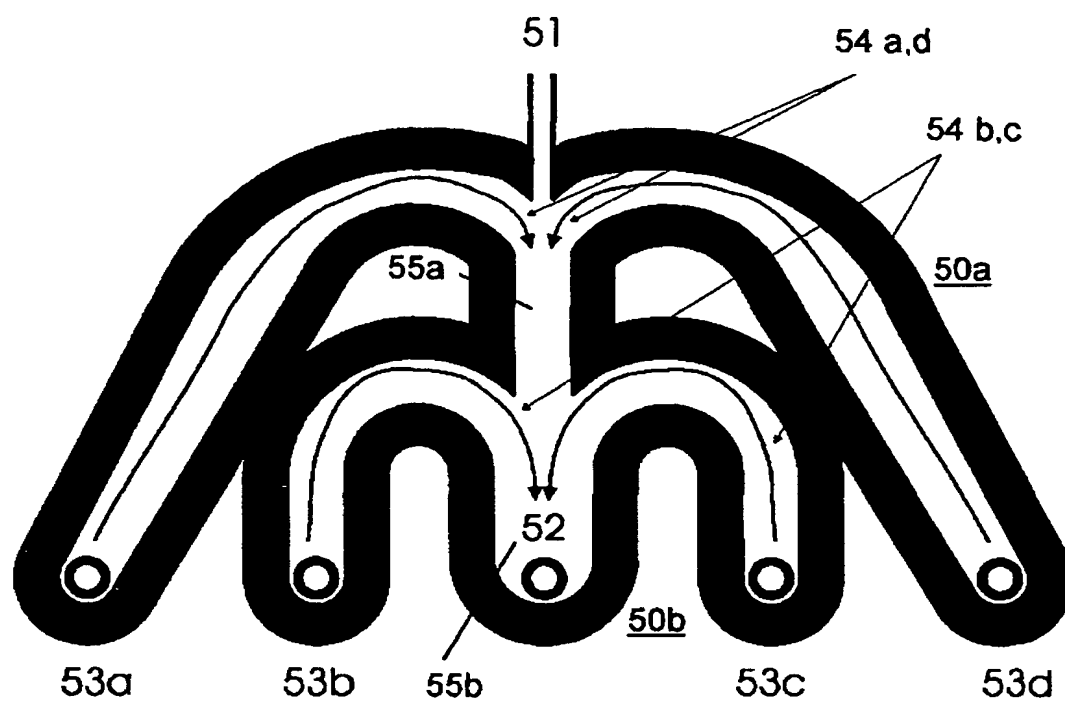


Fig. 5

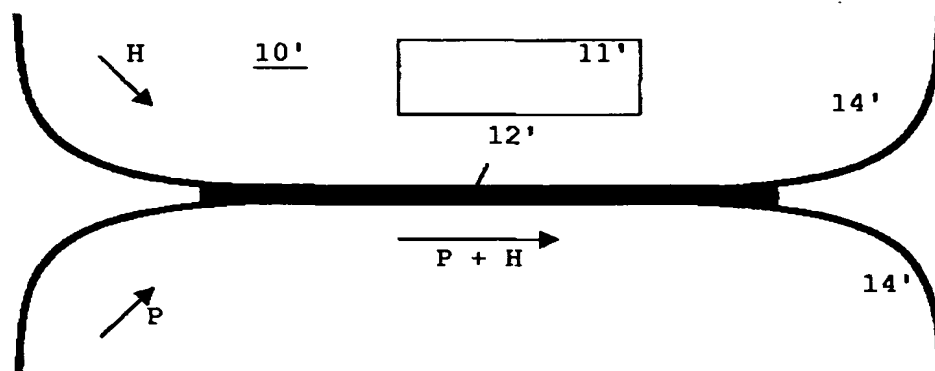


Fig. 6